

## DIE VERMARKTUNG

Gesucht werden Partner für die Weiterentwicklung und Vermarktung der Erfindung. Möglich wären sowohl die Lizenznahme als auch der Erwerb der Schutzrechte.

## WEITERE DETAILS

- Eine Patentanmeldung wurde beim europäischen Patentamt eingereicht.
- Die Anmeldung befindet sich im Prioritätsjahr. Eine internationale Patentanmeldung ist daher noch möglich.

## KONTAKT

Falls wir Ihr Interesse geweckt haben und Sie Fragen haben bzw. weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich bitte an:

Universität des Saarlandes  
Wissens- und Technologietransfer GmbH  
**PatentVerwertungsAgentur**  
**der saarländischen Hochschulen (PVA)**

Im Starterzentrum, Gebäude A1 1  
66123 Saarbrücken

Tel.: 0681-302-6340

Fax: 0681-9386903

Email: [a.seifert@univw.uni-saarland.de](mailto:a.seifert@univw.uni-saarland.de)

[www.pva-saarland.de](http://www.pva-saarland.de)

Ihr Ansprechpartner:

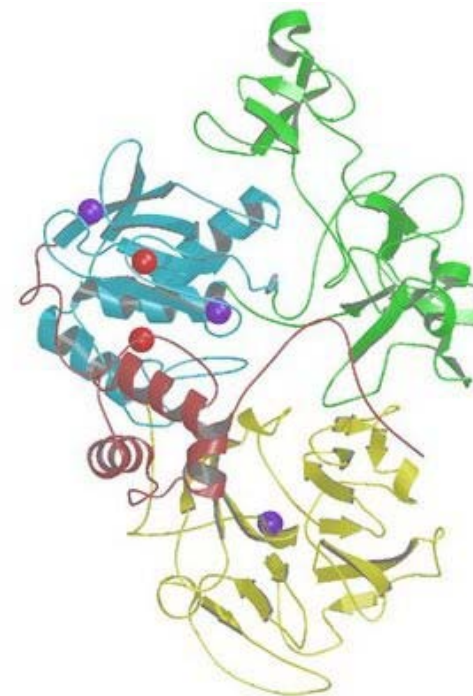
**Dr. Annekathrin Seifert (Dipl.-Chem.)**

**signo**

Hochschulen

Schutz von Ideen für die  
gewerbliche Nutzung

# MMPACE – EIN NEUER SCREENING- ASSAY FÜR MMP- INHIBITOREN



Universität des Saarlandes  
Wissens- und  
Technologietransfer GmbH  
PatentVerwertungsAgentur PVA

## STAND DER TECHNIK

Eine ganze Reihe von Erkrankungen beim Menschen wie z. B. Diabetes Mellitus, Arthritis und vor allem Krebs gehen Hand in Hand mit Fehlfunktionen in der Regulation von Matrix-Metallo-Proteinasen (MMPs), insbesondere MMP-2 und MMP-9. Die Entwicklung und Validierung von neuen Inhibitoren ist oftmals verbunden mit den hohen Kosten der MMP-Gewinnung und Aufreinigung aus menschlichen Tumor-Zelllinien oder primären Fibroblasten sowie der Notwendigkeit von nachträglicher *in-vitro*-Aktivierung durch *per se* toxische anorganische Verbindungen.

## DIE IDEE

Vor diesem Hintergrund wurde ein innovativer zell-basierter MMP-Bioassay entwickelt, der ein *high-through-put* Screening neuer MMP-Inhibitoren ermöglicht. Die Methode basiert auf der heterologen Expression und Immobilisierung von biologisch aktiven Formen von MMP-2 und MMP-9 auf der Zelloberfläche von *Pichia pastoris*. In dieser Weise modifizierte Hefe-Zelle können frisch oder aber auch nach Aufbewahrung im gefriergetrockneten Zustand in einem MMP-

Inhibitor-Screening eingesetzt werden. Ein kommerziell erhältlicher Gelatinase-Assay (INVITROGEN) wurde so verändert, dass er die besonderen Anforderung eines zellbasierten Systems erfüllt und somit ein effizientes Instrument zur Quantifizierung der Aktivität von MMP-Inhibitoren in einem einfachen und simplen standardisierten Bioassay darstellt.

## TECHNISCHE ANWENDUNG

Die sogenannten MMPace-Zellen können sehr günstig und einfach durch *fed batch* Fermentation oder aber als Kultur im Erlenmeyerkolben hergestellt werden. Anschließend können die Zellen direkt verwendet werden oder aber über mehrere Monate nach Gefriertrocknung aufbewahrt werden.

Die Immobilisierung der MMPs auf der Zelloberfläche ersetzt zeit- und kostenintensive chromatographische Aufreinigung durch eine einfache Zentrifugation und setzt dadurch die notwendige Arbeitszeit um reine MMP-2- oder MMP-9-Päparate zu erhalten drastisch herab. Darüber hinaus wird durch die Darstellung bioaktiver MMPs auf der Zelloberfläche die kritische und umweltschädliche nachträgliche Aktivierung gespart.

Das eigentliche Screening nach MMP-Inhibitoren erfolgt durch Versetzen von MMPace-Zellen mit Gelatinase-Assay-Substrat und potentiellen Inhibitoren in der gewünschten Lösung. Die verbliebene MMP-Aktivität kann mit Hilfe eines Mikroplatten-Lesegerätes ausgewertet werden, was einen quantitativen Vergleich des Inhibitor-Potentials einer Reihe von Proben ermöglicht.

## DIE VORTEILE

Die Immobilisierung von humanen MMPS auf der Zelloberfläche von *Pichia pastoris* stellt ein sicheres, sauberes und hochgradig kosteneffektives Screening-System mit den folgenden Eigenschaften dar:

- Einfache Produktion in einem Mikroorganismus mit GRAS-Status
- Ein Liter Kultur (OD600~100) ergibt Zellen mit einer MMP-Aktivität von mindestens 5 mg konventionell aufgereinigter Enzyme
- 100%ige Aufreinigung innerhalb weniger Minuten
- keine weitere Aktivierung ist notwendig
- genauso einfache Anwendung wie bei gelösten Enzymen